

УДК 576.893.195 : 595.341.4

© 1994

**MICROSPORIDIUM FLUVIATILIS SP. N.
(PROTOZOA: MICROSPORIDIA)
ИЗ ЦИКЛОПА EUCYCLOPS SERRULATUS
С ОПИСАНИЕМ НОВОГО ТИПА ПОЛЯРОПЛАСТА**

В. Н. Воронин

Приводятся данные по морфологии и ультраструктуре нового вида микроспоридий, выделенного из циклопа *Eucyclops serrulatus* (Fisch). Обращено внимание на необычное строение поляропласта, который рассматривается как новый тип организации этой внутриспоровой органеллы.

Жизненный цикл микроспоридий завершается образованием огромного числа спор. Последние, несмотря на их микроскопические размеры, имеют очень сложное и разнообразное строение, что широко используется в систематике этих простейших. Особенности ультратонкой организации микроспоридий подробно освещены в обзорах Исси (1986) и Ларссона (Larsson, 1986). Последний исследователь не только провел всесторонний анализ строения различных внутриспоровых органелл, но и постарался их классифицировать. Им было выделено 5 типов организации поляропласта, одного из основных элементов аппарата экструзии полярной трубки. В ходе наших работ по изучению микроспоридий пресноводных гидробионтов в циклопах *Eucyclops serrulatus* был обнаружен вид, имеющий необычайно крупные споры, соединенные постоянно попарно. Выполненное электронно-микроскопическое исследование позволило установить, что для спор этой микроспоридии характерно своеобразное, ранее не описанное строение поляропласта. По этому, а также другим признакам обнаруженный вид значительно отличается от ранее описанных из циклопов (Воронин, 1986), и поэтому рассматривается нами как новый. Настоящая работа посвящена описанию морфологии и ультраструктуры данной микроспоридии с детальным анализом особенностей организации поляропласта.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сбор материала проводили на р. Оредеж Ленинградской обл. Пробу планктона, отловленного сачком на литорали, доставляли живой в лабораторию, где просматривали под стереомикроскопом. Циклопов, выделяющихся среди общей массы рачков своей белой окраской тела, отлавливали и помещали индивидуально на предметное стекло в капле воды. Затем препаративной иглой прокалывали цефалоторакс и, убрав рачка, микроскопировали содержимое капли при больших увеличениях микроскопа. В случае заражения циклопов данной микроспоридией предметное стекло

использовали для изготовления постоянного водного препарата, а тело рачков переносили в 2.5%-ный раствор глутаральдегида на какодилатном буфере, в котором хранили несколько суток с последующей дофиксацией в 1.5%-ном растворе Os_3O_4 в течение часа. Обезвоживание материала проводили в серии растворов этанола возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне, после чего заливали в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали в водных растворах уранил-ацетата и цитрата свинца по общепринятой методике и просматривали в просвечивающем режиме электронного микроскопа JEM-100C.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В собранном и изученном посредством световой и электронной микроскопии материале присутствовали только зрелые споры паразита. Отсутствие стадий мерогонии и спорогонии не позволило определить родовую принадлежность обнаруженной микроспоридии, и поэтому она отнесена в сборную группу *Microsporidium*. В то же время уникальное строение спор этой микроспоридии дает нам основание рассматривать ее как новый вид.

***Microsporidium fluviatilis* sp. n.** (рис. 1, 2; см. вкл.)

Х о з я и н: циклоп *Eucyclops serrulatus* (Fisch).

Л о к а л и з а ц и я: жировое тело.

М е с т о и в р е м я о б н а р у ж е н и я: р. Оредеж Ленинградской обл., октябрь 1990 г.

О п и с а н и е п а р а з и т а. Световая микроскопия (рис. 1, а). На мазках и водных препаратах присутствовали только зрелые споры паразита, соединенные попарно вдоль своей продольной оси. Расположение спор в каждой паре строго однонаправленное. На заднем конце споры хорошо заметна юлярная вакуоль округлой формы. Длина живых спор колеблется в пределах 16—18 мкм, при толщине в наиболее широкой части споры 2.8—3 мкм. Споры асимметричные, дубинковидные, т. е. на границе соприкосновения двух спор их стенки практически прямые и слегка вогнутые на противоположных сторонах.

Электронная микроскопия (рис. 1, б, в; 2). На срезах передней части двойных спор видно, что небольшое пространство между ними заполнено еструктурным электронноплотным материалом (рис. 1, б). Этот материал как бы цементирует споры на протяжении передней трети их длины, после чего исчезает.

Ультратонкое строение спор типичное для Nosematidea, имеющих хорошо развитый аппарат экстрезии (рис. 1, в; 2). Полярный якорный диск характерной грибовидной формы, простого строения и диаметром около 0.25 мкм. Полярный сак относительно небольшой (рис. 2, а).

Поляропласт занимает свыше половины объема споры и имеет крайне сложную организацию. В нем четко выделяются четыре отдела, имеющие различное строение. В передней части споры поляропласт представлен редкими камерами, разделенными пластинами поляропласта, которые идут вдоль стенки споры (рис. 2, а). Передняя часть поляропласта плавно переходит во вторую, подлежащую, которая выделяется более тесно лежащими пластинами, направленными практически перпендикулярно к стенке споры. В совокупности эти две части поляропласта занимают не более одной трети от его общей длины (рис. 1, в). Третья часть поляропласта представлена крупными сферическими камерами, часто слегка уплощенными. Их размер колеблется в пределах 0.45—0.55 мкм. Камеры имеют сложное внутреннее

строение, чем отличаются от других камерных поляропластов микроспоридий. Центральную часть этих камер занимает округлое тело, состоящее из мельчайших гранул средней электронной плотности (рис. 2, б). Максимальный диаметр этих тел не превышает 0.25 мкм. В свою очередь центральное тело окружено толстым слоем электронноплотного материала, четко отграниченного от внешней зоны, заполненной материалом средней электронной плотности. Каких-либо мембранных структур на границе трех различных по электронной плотности зон не наблюдали (рис. 2, б). По размеру сферокамерная часть поляропласта составляет примерно треть от всего объема этой внутриспоровой органеллы. Последняя (четвертая) часть поляропласта, также по объему близкая к одной трети, представлена плотнолежащими пластинами, ориентированными перпендикулярно к продольной оси споры (рис. 1, в; 2, б). Сразу за поляропластом лежит одно крупное ядро овальной формы (рис. 1, в).

Полярная трубка по отношению к общему размеру споры сравнительно тонкая и равномерной толщины от якорного диска до первых витков в задней части споры (рис. 1, в; 2, а). Число витков, расположенных в один слой, равно 23—24, однако на поперечных срезах трубки видно, что в их внутреннем строении имеются различия. Передние три витка в своей центральной части содержат электронноплотный материал, который в виде следов имеется у четвертого витка и отсутствует у всех последующих. Кроме того, диаметр трех передних витков, составляющий 140—150 нм, несколько больше, чем у остальных (130 нм). Таким образом, по характеру строения полярную трубку данного вида можно отнести к гетерофилярному типу.

На заднем полюсе споры расположена крупная задняя вакуоль. Ее полость в основном электронно-прозрачна. Споровая оболочка по отношению к общему размеру относительно тонкая (рис. 2, б). Ее минимальная толщина (50—60 нм) наблюдается на апикальном конце споры, а максимальная (100—110 нм) — на заднем полюсе споры. Представляет интерес и то, что в передней части споры оболочка гладкая, а в задней она волнистая (рис. 2, а, в). Экзоспора имеет сложное строение и состоит из четырех тонких чередующихся слоев различной электронной плотности (рис. 2, г). К наружному слою экзоспоры тесно прилегает небольшой и очень рыхлый слой, образованный тончайшими электронноплотными нитями и гранулами, имеющими, очевидно, экзоспоровое происхождение. На электроннограммах вокруг спор всегда присутствует большое чистое пространство, свидетельствующее, очевидно, о наличии у спор гликокаликса или слизистой капсулы. Оболочка спорофорного пузырька и паразитофорная вакуоль отсутствуют.

ОБСУЖДЕНИЕ

Описываемый вид имеет целый ряд морфологических особенностей, представляющих определенный таксономический интерес. Во-первых, это уже второй случай нахождения у циклопов микроспоридий, споры которых прочно соединены попарно посредством склеивающего электронноплотного секрета. Однако если у ранее описанного вида *Holobispora thermocyclopis* в скреплении спор принимает участие и околоспоровая оболочка экзоспорового происхождения (Воронин, 1986), то у данного вида склеивающий секрет располагается только между спорами и, по-видимому, также имеет экзоспоровое происхождение. Вторая особенность *Microsporidium fluviatilis* заключается в уникальности его поляропласта, который состоит из четырех различных по строению участков. При этом особый интерес представляет наличие крупных сферических камер со сложной внутренней организацией, располагающихся между двумя пластинчатыми участками поляропласта

(рис. 1, 2). Ранее Ларссоном были предприняты попытки систематизировать строение поляропластов у микроспоридий, в результате чего им было выделено 5 основных типов их организации (Larsson, 1986). В последующем Лом и Дыкова (Lom, Dykova, 1990) описали микроспоридию *Hrabyeia xerkophora*, поляропласт которой состоял из одной хлопьевидной (flocculated) части и по этому признаку не подходил ни к одному из 5 описанных Ларссоном типов. Поляропласт *Microsporidium fluviatilis* из-за своей сложной организации и уникального строения составляющих его сферических камер также не совпадает ни с одним из описанных ранее типов и, очевидно, должен рассматриваться как новый. Учитывая крайнее разнообразие в строении спор микроспоридий и все еще слабую изученность этой группы простейших, можно предположить, что вариантов в организации поляропласта намного больше, чем это известно сейчас. Кроме того, представляется интересным, не ограничиваясь констатацией наличия различных типов поляропласта, провести сравнительный анализ, оценить их таксономическую значимость, но это выходит за рамки данной публикации.

Список литературы

- Воронин В. Н. Микроспоридии ракообразных // Протозоология. 1986. № 10. С. 137—166.
Исси И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших // Микроспоридии. Л.: Наука, 1986. С. 6—136.
Larsson R. Ultrastructure, function and classification of microsporidia // Progr. Protistol. 1986. Vol. 1. P. 325—390.
Lom J., Dykova I. *Hrabyeia xerkophora* n. gen. n. sp., a new microsporidian with tailed spores from the oligochaete *Nais christinae* Kasparszak, 1973 // Europ. J. Protistol. 1990. Vol. 25. P. 243—248.

НИИ озерного и речного хозяйства,
Санкт-Петербург

Поступила 10.01.1993

MICROSPORIDIUM FLUVIATILIS SP. N. (PROTOZOA: MICROSPORIDIA) FROM THE CYCLOPE EUCYCLOPS SERRULATUS (FISCH.) WITH DESCRIPTION OF A NEW TYPE OF POLAROPLAST

V. N. Voronin

Key words: Microsporidia, cyclope, ultrastructure, polaroplast

SUMMARY

Microsporidium fluviatilis sp. n., a parasite of a fat body of *Eucyclops serrulatus* (Fisch.) in Russia, is described basing on light microscopic and ultrastructural characteristics. Vegetative stages were not observed in the infected cyclope. The fresh and fixed spores are permanently joined into doublets by an electron-dense substance. The monokaryotic, fresh spores are elongate pyriform, measuring $16-18 \times 2.8-3.0 \mu\text{m}$. The polaroplast has four parts together occupying about 2/3 of the spore. The two anterior parts are composed of irregular chambers: loosely arranged compartments anteriorly and closely arranged compartments posteriorly. The next polaroplast part has large ball-like compartments of the complex structure. The last, fourth polaroplast part is composed of lamellae. The thin isofilar polar filament has 23—24 coils which are arranged in one layer in the posterior third of the spore. The spore wall consists of a plasmalemma, a thin endospore and a layered exospore having fine electron-dense granular coat. There is no sporophorous vesicle or parasitophorous vacuole. The unusual polaroplast construction of *Microsporidium fluviatilis* sp. n. is discussed.

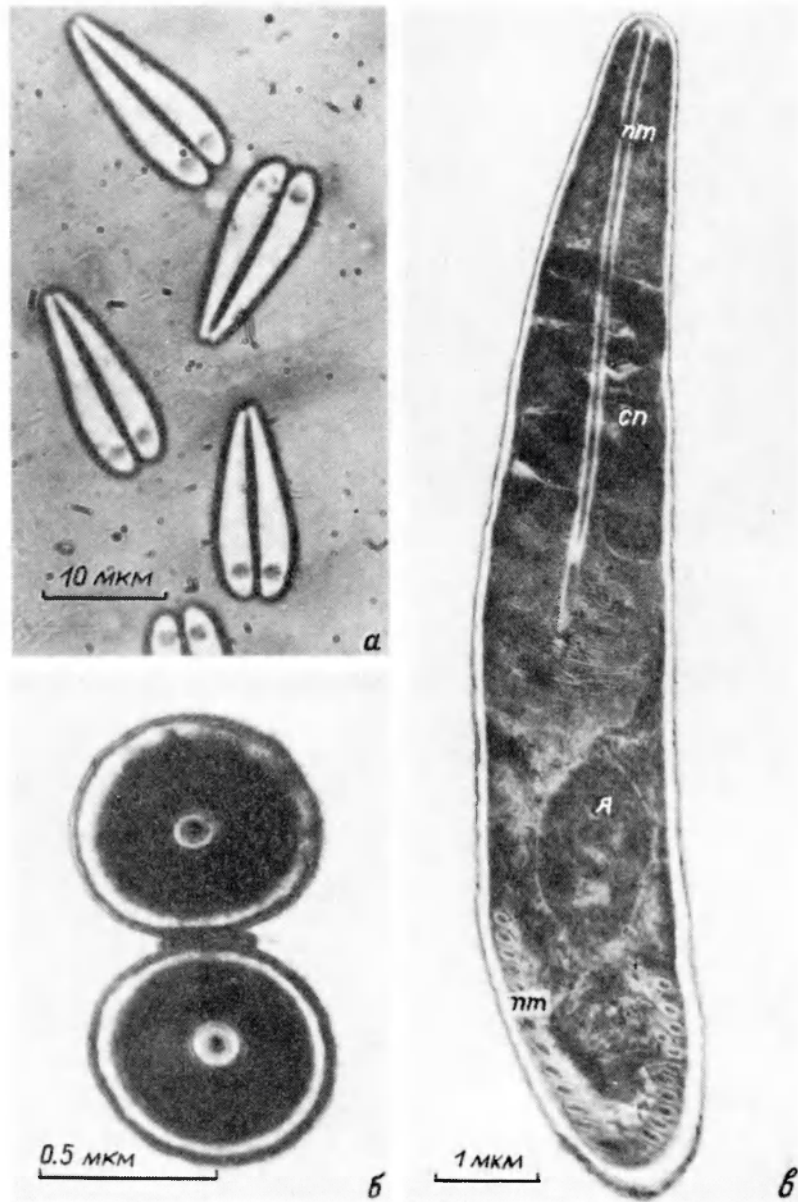


Рис. 1. Морфология спор *Microsporidium fluviatilis* sp. n.

а — живые соединенные попарно споры; б — поперечный ультратонкий срез переднего конца двух сдвоенных спор с электронноплотным секретом между ними; в — продольный ультратонкий срез споры: я — ядро, nm — полярная трубка, сп — сферическая часть поляропласта.

Fig. 1. The spore morphology of *Microsporidium fluviatilis* sp. n.

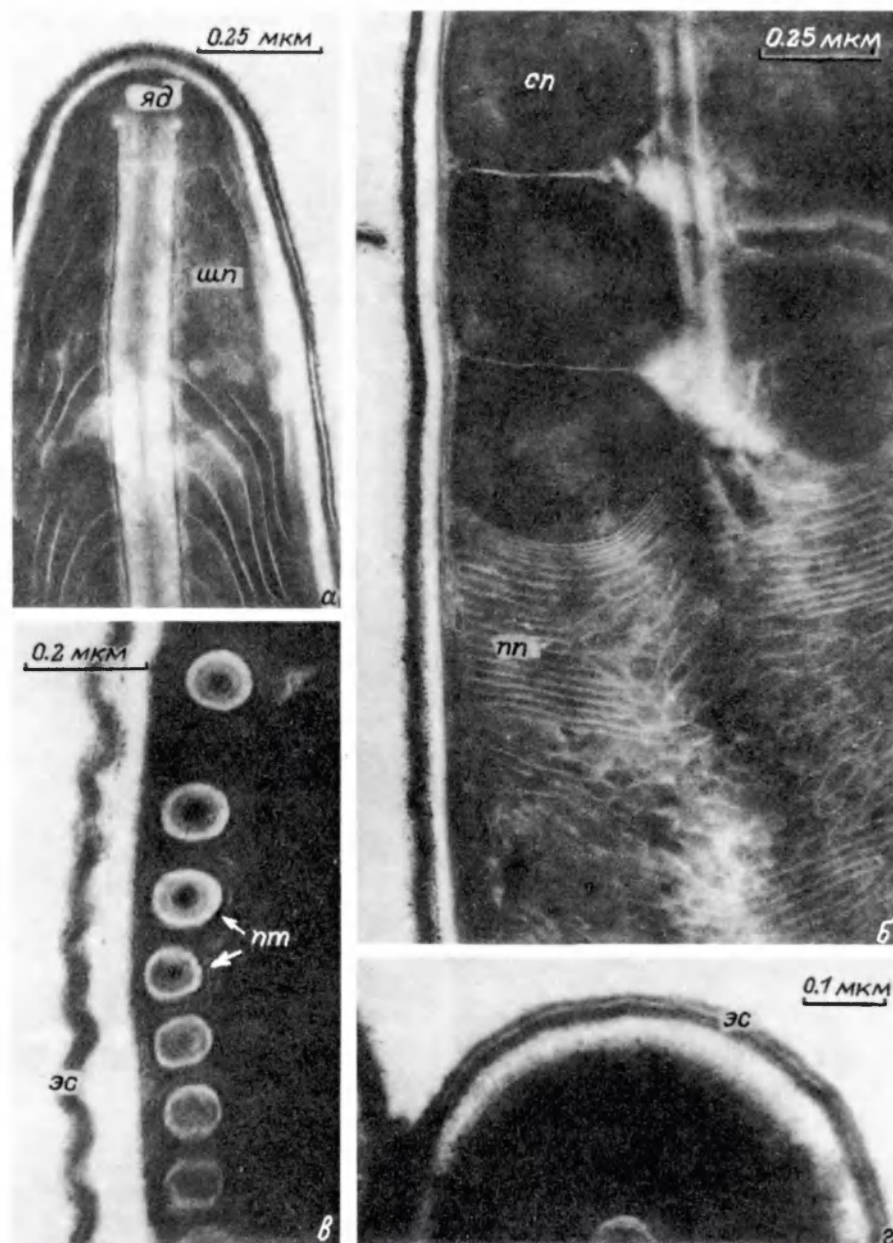


Рис. 2. Ультраструктура внутриспоровых органелл *Microsporidium fluviatilis* sp. n.
 а — передний конец споры с якорным диском (яд), полярной трубкой и ширококамерной частью поляропласта (шп); б — сферические камеры поляропласта (сп) и пластинчатая часть поляропласта (пп); в — поперечные срезы витков полярной трубки разного строения и волнистая экзоспора (эс); г — двухслойная экзоспора.
 Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Fig. 2. Ultrastructure of the intrasporal organelles of *Microsporidium fluviatilis* sp. n.